

- 12 Han, M. K. , Song, *et al.* SIRT1 regulates apoptosis and Nanog expression in mouse embryonic stem cells by controlling p53 subcellular localization[J]. *Cell Stem Cell*,2008, 2:241 - 251
- 13 Bordone, L. , Cohen, *et al.* SIRT1 transgenic mice show phenotypes resembling calorie restriction. *Aging Cell*,2007, 6:759 - 767
- 14 Vaquero, A. , Scher, *et al.* SIRT1 regulates the histone methyl - transferase SUV39H1 during heterochromatin formation[J]. *Nature*, 2007, 450:440 - 444
- 15 Firestein, R. , Blander, *et al.* The SIRT1 deacetylase suppresses intestinal tumorigenesis and colon cancer growth[J]. *PLoS ONE*,2008, 3:e2020
- 16 Milne, J. C. , Lambert, *et al.* Small molecule activators of SIRT1 as therapeutics for the treatment of type 2 diabetes[J]. *Nature*,2007, 450:712 - 716
- 17 Yang, Y. , Fu, *et al.* SIRT1 sumoylation regulates its deacetylase activity and cellular response to genotoxic stress[J]. *Nat. Cell. Biol.*, 2007, 9:1253 - 1262
- 18 Kim, E. J. , Kho, Active regulator of SIRT1 cooperates with SIRT1 and facilitates suppression of p53 activity[J]. *Mol. Cell*,2007, 28: 277 - 290
- 19 Westphal, C. H. , Dipp, M. A. and Guarente, L. A therapeutic role for sirtuins in diseases of aging? [J]*Trends Biochem. Sci*,2007, 32:555 - 560
- 20 Lain, S. , Hollick, *et al.* Discovery, in vivo activity, and mechanism of action of a small - molecule p53 activator[J]. *Cancer Cell*,2008, 13:454 - 463

(收稿:2009 - 06 - 02)

(修回:2009 - 12 - 17)

MYC 的研究进展

张庆华 谢丰培 张 众

MYC 癌基因家族(包括:c - MYC, n - MYC 和 l - MYC)控制一系列生物学反应,包括细胞生长、增生、分化、凋亡及转化等,在过去 25 年中吸引着学术界广泛持久的兴趣。Meyer N 和 Penn L Z 对 1981 年后 293 篇文献的总结《Reflecting on 25 Years with MYC》^[1], Eilers M 和 Eisenman RN 对 1991 年以后 136 篇文献的综述《MYC's Broad Reach》及 Lüscher B 和 Larsson L - G 所作关于 MYC 的 CNIO 癌症会议(2007)报告《The World According to MYC》^[2,3],介绍了 MYC 基因与蛋白质研究的新近进展。本文复习这几篇专论及有关文献,介绍 MYC 的表达、作用机制、细胞生物学功能、调控失常及其对干细胞的调控。

一、MYC 表达的调控

1. 调控信号:MYC 基因转录与蛋白质产生具有高度复杂性,在多种不同生理和病理反应中发生相应的调整。MYC 的表达受多种信号传导通路和调控机制的严密控制,其中,WNT 信号通路对 MYC 表达的调控已经众所周知。Sansom 等(2007 年)证实在结肠癌发生过程,MYC 是癌发生相关的 WNT 信号传导途径下游一个必要的靶,Cowling 等(2007 年)报告 MYC 对 WNT 通路两个抑制物 DKK 和 SFRP1 进行负调控,这证明了 MYC 与 WNT 信号通路之间存在阳性

反馈环^[4]。

2. MYC 转录及其 mRNA 更新的调控:在肿瘤细胞,MYC 的 mRNA 表达明显增加。1986 年几组研究者报告,MYC 是第 1 个被发现的由转录延长控制加以调控的真核细胞基因。细胞分化时,转录延长被阻断,在癌症则这种控制机制明显丧失。MYC 启动子是调控 MYC 网络多种信号级联反应的关键性会聚点。从 20 世纪 80 年代中期至 90 年代早期,开展了 MYC mRNA 更新的研究。在增生或抗增生刺激后,MYC mRNA 表达的巨大差异性不能单用转录来解释。ROCO(1995 年)应用涉及无细胞系统和完整细胞的新技术首先顺式、然后反式,研究了 MYC mRNA 的迅速更新,并发现 mRNA 衰变的翻译依赖性和翻译非依赖性两种机制。

3. MYC 蛋白质的调控:MYC 蛋白接受不同的翻译后调整,包括磷酸化与泛素化。关键性调控发生在 MYC 盒 I(MBI),MBI 含有在 Thr58 和 Ser62 磷酸化的部位。Thr58 和 Ser62 对 MYC 稳定性和活性及转化的调控具有重要意义。不同的信号通路,如 RAS 信号通过活化 MAP 激酶,增强 MYC 在 Ser62 的磷酸化,Ser62 磷酸化后增强 MYC 稳定性;磷酸化 Ser62 并为 Thr58 经糖原合成激酶 3 催化的磷酸化提供一个平台,Thr58 磷酸化继之以一系列变化导致 MYC 泛素化和蛋白酶体内降解^[5,6]。MYC 的蛋白酶体介

作者单位:116023 大连市中心医院(张庆华);大连医科大学(谢丰培、张众)

导的降解由至少两个泛素连接酶, Fbw7 和 Skp2 支配。泛素特异性蛋白酶 USP28 通过 Fbw7 介导与 MYC 相互作用, 从而稳定核内 MYC。在结肠癌和乳腺癌检出高水平 USP28, 它引起这些肿瘤的细胞增生。

二、MYC 的作用机制

MYC 是一种碱性螺旋 - 环 - 螺旋拉链蛋白, 其组成成分有亮氨酸拉链 LA (Landschulz 等 1988 年)、螺旋 - 环 - 螺旋区 HLH (Murre 等 1989 年)、与 DNA 结合而支配 MYC 转录活性的氨基终端区 (Kato 等 1990 年, Blackwell 等 1990 年, 和 Prendergast 等 1991 年)。Blackwood 和 Eisenman (1991 年) 发现 MYC 的匹配蛋白小 bHLHZ (MAX)。在多数情况下, c-MYC 主要通过 C 端 bHLH - ZIP 与同样含 bHLH - ZIP 结构的 MAX 形成异聚体, c-MYC 与 Max 异聚体特异性的识别及高亲和性结合靶基因 DNA 序列中的 CACGTG 核心序列 (E - BOX) 而调节靶基因转录强弱。

1. MYC 的转录激活功能: MYC 表达增强而转录激活的靶基因有成百上千, 其中主要是支配细胞生长 (细胞体积增加)、核糖体生物生成、蛋白质合成和新陈代谢的基因。MYC 可能具有非依赖于异聚匹配 MYC 关联因子 X (MAX) 的活性。MYC 与 MAX 的相互作用是通过各自的 Bhlhz 区, 但 Cowling 和 Cole (2007 年) 证实在缺乏 bHLHZ 的条件下, MYC 可依靠增强 mRNA 帽甲基化而影响靶基因表达, 以至蛋白合成增加。还有报道, 在缺乏 Max 的 PC12 神经细胞, MYC 可抑制 c - JUN 启动子。Galant 分析 MYC, Max 和 Mat 突变体果蝇, 发现 Δ MYC/ Δ Mnt 的发育障碍较 Δ Max 者更为严重。经 MYC 诱发和表达的基因, 大多数由 RNA 多聚酶 II 转录。近年研究发现 MYC 可另外刺激由 RNA 多聚酶 III 和 RNA 多聚酶 I 的靶基因转录, 这进一步证明了, MYC 活性对细胞生长的控制至少部分是通过翻译而产生某些重要蛋白质。

2. MYC 的转录抑制功能: 20 世纪 80 年代开始发现 MYC 参与转录负反馈环。n - MYC 基因产物 (Cleveland 等 1988 年) 或异位 MYC (Penn 等 1990 年) 能抑制内源性 MYC 的转录启动。在生长相关靶基因中, 多种是由于 MYC 的表达而活化, 但也有少数重要基因的转录被 MYC 抑制。在 MYC 下调基因中, 最常见的是涉及细胞周期停止, 细胞黏着和细胞通信的基因。已经证明, 哺乳类 MYC 可以消除那些弱化细胞周期进

展基因 (即周期素依赖性激酶抑制物 CDK1₃) 的表达。MYC 具有刺激细胞生长和消除细胞周期抑制这两方面的功能。由此可以想见, 当 MYC 功能异常时, 其刺激性与抑制性功能的强有力结合可带动细胞无限制复制, 从而发生肿瘤性转化。

3. MYC 调控 DNA 复制: 众所周知的 MYC 基本功能是调控靶基因转录, 但有证据表明 MYC 可能直接调控 DNA 复制。曾有人在有爪蟾早期发育阶段观察到, 母系 MYC 募集于细胞核, 虽其转录保持沉默, 但有特征性的 DNA 迅速复制。这个最初的试验结果由于难以重复曾受到非议。近年 Prierce 等 (2004 年), Maines 等 (2004 年) 和 Domingue - Sola 等 (2007 年) 的报告重新唤起了对 MYC 在 DNA 复制方面作用的兴趣。Domingue - Sola 等证实, MYC 在基因转录功能静止状态下, 可依靠促进复制启动活性而刺激 DNA 复制, 其代价是增加复制相关的 DNA 损伤, 继而细胞周期检查点被激活, 终至复制受抑制^[7]。

三、MYC 的细胞生物学功能

MYC 调控的细胞生物学活动包括细胞周期、细胞分化、细胞生长、蛋白质合成与新陈代谢、血管生成等。

1. 细胞周期和细胞分化: 对于细胞增生, MYC 具有独特和决定性作用。MYC 可经 Cyclind1、Cyclind2、Cycline1、Cyclina2、CDK4、细胞分裂周期 25A (CDC25A)、E2F1 和 E2F2 的激活, 启动细胞周期演进。细胞周期的 G₀/G₁ 向 S 期演进必需 MYC, MYC 激活后 G₁ 期常缩短。MYC 消除细胞周期检查点基因 (如 GADD45 和 GADD153) 的转录。Cycline - CDK2 是 MYC 下游重要效应器。MYC 有效的转化效用需要 CDK2; 另一方面, Cycline - CDK2 可通过 p27^{Kip1} 磷酸化 MYC 的 Ser62, 因而影响 MYC 活性与稳定性。这些分子在一个阳性反馈环内相互作用, 可有效地防止细胞从细胞周期退出。MYC 可通过直接抑制基因转录, 或间接通过泛素蛋白体介导的降解, 而抑制周期素依赖性激酶 (CDK) 抑制因子 p27 等。MYC 过度表达使 p27 异常下降是许多肿瘤的特征。MYC 促进 p27 降解的机制可能是, 以 p27 为靶的 p27^{Kip1} E3 连接酶的两个亚单位 Skp2 和 Cks1 被 MYC 激活转录。Cleveland 进一步证明在 Cks1^{-/-} 背景下, MYC 诱发淋巴瘤发生受遏制, p27 水平恢复。由此可见在 Cyclin E - CDK2 和 MYC 功能之间, p27 具有重要作用^[3]。MYC 是细胞分化与细胞命运的调控物。

异位 MYC 表达能阻断多种不同类型细胞的分化。细胞退出细胞周期,发生分化,需要下调 MYC;但 MYC 也能刺激细胞分化。MYC 调控失常阻碍细胞分化和促进细胞迁移,这导致癌症分化降低、侵袭和转移等变化。

2. 细胞生长、基因组不稳定性和血管发生:体内和体外实验研究结果证明,MYC 能增强肿瘤细胞和正常细胞生长的能力,MYC 充分供给细胞的几类基本建构材料,增加细胞代谢与蛋白质合成。当 MYC 激活时,细胞生长不再限速。Mai 等(1996 年)报道,MYC 调控失常的细胞发生特异性基因高频率扩增。其他研究者证明 MYC 能促进染色体不稳定性,其机制可能有:反应性氧水平增高,染色体结构改变,压抑 p53 检查点及诱发 DNA 损伤反应和(或)复制。基因组构成高度精确性的丧失是肿瘤发生的标志。Ngo 等(2000 年)证实 MYC 调控失常伴随血管生成,血管生成需要 Thrombospondin 下调,Thrombospondin 下调是通过 MYC 诱发 miR17-92 micro RNA 而致。Pellengaris 和 Evan 等(1999 年,2002 年)利用胰岛细胞证实,MYC 表达增加和白介素 1 β (IL1 β)释放对于启动血管生成具有决定性作用。

3. MYC 对细胞凋亡的调控:Source 等(2001 年) De Alboran 等(2004 年)报道,MYC 裸细胞对不同凋亡刺激具抵抗性,这证明 MYC 在凋亡过程中的决定性作用。MYC 失调使 ARF 上调,并通过 ARF-MDM2-p53 通路诱发凋亡。在 MYC 致瘤的小鼠模型,丧失这些肿瘤抑制物可促成肿瘤生成。ARF-MDM2-p53 之外的瘤基因或致瘤性调控物如 BMI1, TWIST1 和 CUL7 可与 MYC 合作从而发挥致病作用。MYC 也可改变原凋亡和抗凋亡因子的平衡,在适宜条件下诱发细胞凋亡。Erichen 等(2001 年)和 Maclean 等(2003 年)证实 MYC 间接地抑制抗凋亡蛋白 Bcl2 和 BclX_L,这与 MYC 通过 BAX 促发凋亡的作用一致。MYC 蛋白表达对于激活原凋亡蛋白 BAX 的构象改变起决定性作用。MYC 活性直接影响线粒体释放细胞色素 C,从而激活下游凋亡效应器级联反应,MYC 还可间接上调原凋亡性 BIM 分子而促发凋亡。调控失常的 MYC 既促进细胞过度增生状态,同时也通过增加细胞死亡,以保持细胞周期的核查。消除 MYC 对细胞凋亡的促进作用,对于细胞转化具有决定性意义,一旦这种情况发生即可导致肿瘤性克隆形成。细胞转化需要细胞不同瘤基因间的合作。许多研究结果指出,瘤基因协同性突变的重要作用是消

除 MYC 诱发的凋亡。

四、MYC 调控失常

肿瘤细胞与其对应的非转化细胞相比,一般显示 MYC 高表达水平。虽然正常增生细胞含有数百至 2000 MYC 分子,瘤细胞的 MYC 却可达数十万个,目前尚未发现 MYC 编码序列突变。已经认识到的瘤基因活化有 3 种机制:插入突变,染色体易位,基因扩增。

1. 插入突变:急性转化病毒诱发的白血病是由鸟髓细胞增生逆病毒与 MYC 形成的嵌合体 V-gag-MYC 所致,分析鸟造白细胞组织增生病毒(ALV)诱发肿瘤的 DNA 和 RNA,证实病毒整合入宿主基因组可激活临近细胞瘤基因。MYC 是首个被证实通过逆病毒启动子插入激活的细胞瘤基因(Hayward 等 1981 年)。随后在小鼠、大鼠发现白血病病毒诱发淋巴瘤的白血前病毒序列位于 c-MYC 座位邻近(Steffen, 1984 年)。多家研究结果确认非突变性细胞基因由于插入突变而被激活以致诱发肿瘤性转化。

2. 染色体易位:对小鼠浆细胞瘤的分子分析发现 MYC mRNA 的产生来自免疫球蛋白(IG)重链座位和 MYC 瘤基因重组。人类 c-MYC 基因位于 8 号染色体长臂邻近(Dalla-Favera 等 1982 年)。在 Burkitt 淋巴瘤,含 IG 重链和轻链基因的染色体 14、2 或 22 与染色体 8 易位。这种易位使 MYC 与 IG 座位相邻,乃至非突变的 MYC 过表达,似乎足以产生肿瘤。这种情况常见于造血系统肿瘤。

3. 基因扩增:癌细胞的核型异常包括染色体同质性染色区与双微小染色体。检查结肠癌细胞系和白血病 HL60 细胞的染色体同质性染色区和双微小染色体,发现这些细胞含有 MYC 的多拷贝(Alitalo 1983 年)。仅在发育过程表达的 MYCN 可于人类神经母细胞瘤细胞系和肿瘤样品中发现(Schwab 等 1983 年)。MYCL1 扩增见于小细胞肺癌(Nau 等 1985 年)及卵巢癌(Wu 等 2003 年)。与造血细胞恶性肿瘤发生于染色体易位不同,人类实体瘤通常检出的 MYC 激活是基因扩增所致。

4. c-MYC 与核糖体蛋白的反馈调控:基因转录翻译后产生蛋白质,有赖于核糖体生物生成。瘤基因 c-MYC 是核糖体生物合成和翻译的关键性调控物。最近 Dai 和 Lu(2008 年)发现核糖体蛋白 L11 具有 c-MYC 反馈调控功能。他们确认 rpL11 基因是 c-MYC 的转录靶,同时也证实 rpL11 是 c-MYC 的负反馈调控物,可抑制细胞内 c-MYC 的转录活性^[8]。rpL11 具有灭活 c-MYC 及活化 p53 的双重能力。它

是否具有肿瘤抑制功能,及是否可能发生 rpL11 的突变或单个核甙酸多态而致 c - MYC 表达失常,有待进一步研究。

五、MYC 对干细胞的调控

MYC 可与大量基因组座位结合的能力,已在胚胎干细胞得到证实(Kim 2008 年)^[9]。MYC 作为转录因子的多重功能之一是其活性能使体细胞程序重排,诱发多能干细胞(ips)。几个独立的研究组均发现 MYC 异位表达可使 Oct4, Sox2 和 Klf4 自小鼠和人类纤维母细胞、肝细胞和成熟白血细胞诱发多能干细胞生成能力增强^[10]。在生成的 ips 细胞,异位 MYC 表达停止,证明 MYC 高水平仅为多能性的建立和(或)关键性细胞池扩张的一时性需要。若干研究结果表明了内生性 MYC 蛋白在干细胞和祖细胞增生中的作用。果蝇神经母细胞由于细胞命运决定因子 BRAT 介导而发生不对称核分裂时,其中一个子代细胞退出细胞周期,继之终期分化。Brat 是果蝇 MYC(DMYC)的负调控物,抑制细胞生长,具有肿瘤抑制蛋白性质;Brat 如果缺失,则两个子代细胞将像母代神经母细胞一样继续增生。这也证明,d - MYC 表达对于神经祖细胞增生的维持与分化抑制起关键性作用。同样,哺乳类 n - MYC(与 c - MYC 密切相关)在神经祖细胞呈高表达,当其条件性缺失时,大脑皮质和体外培养神经球中的神经祖细胞发生成熟前分化。这证明 n - MYC 在阻止哺乳动物神经前体细胞的成熟前分化上起关键作用。已经证明 n - MYC 在肺发育过程,以剂量依赖性方式发挥作用,保持远端祖细胞的未分化增生状态。最近,在小鼠胎盘救护试验中证明,造血干细胞和祖细胞特别需要 c - MYC。胚胎干细胞的自我更新能力有赖于白血抑制因子 LIF 的存在。LIF 结合其相识受体后,活化转录因子 STAT3,后者激活 c - MYC 的表达。STAT3 或 c - MYC 突变体等位基因(T58A)的结构性表达,即使移除 LIF,也能维持 ES 细胞的自我更新和多能性状态;反之,抑制 MYC,即使存在 LIF,也诱发 ES 细胞分化,这证明 MYC 对于保持 ES 细胞自我更新具有关键性作用。MYC 的功能除了抑制分化和促进增生,还有更为复杂的方面。在活化的 Keratin 14 启动子控制下,皮肤干/祖细胞的 MYC 异位表达可诱发干细胞长期消失。在体外短期试验中 MYC 促进角化细胞增生,但长期培养导致

角化细胞丧失克隆生长能力和促进分化。同样,c - MYC 在造血细胞的异位表达导致干细胞缺失,而 c - MYC 缺失则导致干细胞池扩增和分化细胞系丧失。在角化细胞和造血干细胞 HSCs,MYC 促进分化的作用至少部分是涉及其减少干细胞和其龕之间黏着性的能力。在角化细胞,MYC 通过与 Miz1 结合,抑制一系列编码细胞 - 细胞和细胞基层黏着蛋白的基因,包括整合素 $\beta 1$ 和 $\alpha 6 \beta 4$ 。整合素 $\beta 1$ 再表达时,使表达异位 MYC 小鼠的成熟前分化表型正常化。这证明整合素 $\beta 1$ 是 MYC 在此通道上的重要效应器。缺乏 c - MYC 表达的 HSCs,其黏着受体 LFA - 1, n - Cadherin 和几种整合素的水平提高,保持干细胞的相对静止状态需要 p21^{Kip1};通过 p21^{Kip1} 表达的抑制,MYC 促进细胞退出干细胞区间。

参考文献

- 1 Meyer N, Penn LZ. Reflecting on 25 years with MYC. *Nat Rev Cancer*,2008, 8(12):976 - 990
- 2 Eilers M, Eisenman RN. MYC's broad reach. *Genes Dev*,2008, 22(20):2755 - 2766
- 3 Luscher B, Larsson L - G. The world according to MYC, Conference on MYC and the transcriptional control of proliferation and oncogenesis. *EMBO Rep*,2007, 8(12):1110 - 1114
- 4 Cowling, VH, D' Cruz, C. M, Chodosh, LA, *et al.* c - MYC Transforms Human Mammary Epithelial Cells through Repression of the Wnt Inhibitors DKK1 and SFRP1. *Mol Cell Biol*,2007,27:5135 - 5146
- 5 Hann, SR. Role of posttranslational modifications in regulating c - MYC proteolysis, transcriptional activity, and biological function. *Semin. Cancer Biol*,2006,16:288 - 302
- 6 Vervoorts, J., Lüscher - Firzlafl J, and Lüscher, B. The Ins and Outs of MYC regulation by posttranslational mechanisms. *J Biol Chem*, 2006,281:34725 - 34729
- 7 Dominguez - Sola D, Ying CY, Grandori C, *et al.* Non - transcriptional control of DNA replication by c - MYC. *Nature*,2007,448, 445 - 451
- 8 Dai MS, Lu H. Crosstalk between c - MYC and ribosome in ribosomal biogenesis and cancer. *J Cell Biochem*,2008,105:670 - 677
- 9 Kim J, Chu J, Shen X, *et al.* An extended transcriptional network for pluripotency of embryonic stem cells. *Cell*,2008;132:1049 - 1061
- 10 Hanna J, Markoulaki S, Schorderet P, *et al.* Direct reprogramming of terminally differentiated mature b lymphocytes to pluripotency. *Cell*, 2008, 133(2):250 - 264

(收稿:2009 - 10 - 27)

(修回:2009 - 12 - 17)